

SERIE: AKTUELLE IMMUNOLOGIE (5)

# Monoklonale Antikörper in der Allergologie

Volker Wahn, Berlin, und Albrecht Bufe, Bochum

Die Erstbeschreibung monoklonaler Antikörper (Monoclonals) geht auf Georges Köhler und Cesar Milstein (1975) zurück, ist somit fast 50 Jahre alt [8]. Als die recht kurze Publikation erschien, konnte man noch nicht absehen, dass diese Technik der Zellfusion die Medizin in Diagnostik und Therapie revolutionieren würde. Völlig zu Recht erhielten die Autoren, gemeinsam mit Niels Jerne, 1984 den Nobelpreis für Medizin. Dieses fast 50-jährige Jubiläum wollen wir zum Anlass nehmen, in der Serie „Aktuelle Immunologie“ über die grundlegende Entwicklung monoklonaler Antikörper und deren mittlerweile umfassende Bedeutung in der klinischen Medizin, auch der Allergologie und Pneumologie, zu berichten.

## Grundbegriffe Titer, Spezifität, Klonalität

Die allgemeinen Funktionen von Antikörpern illustriert Abbildung 1.

Wird ein Versuchstier oder ein Mensch mit einem Antigen immunisiert, so zeigt sich in der Regel, dass dieses Antigen mehrere immunogene Determinanten aufweist, sogenannte Epitope (Abb. 2).

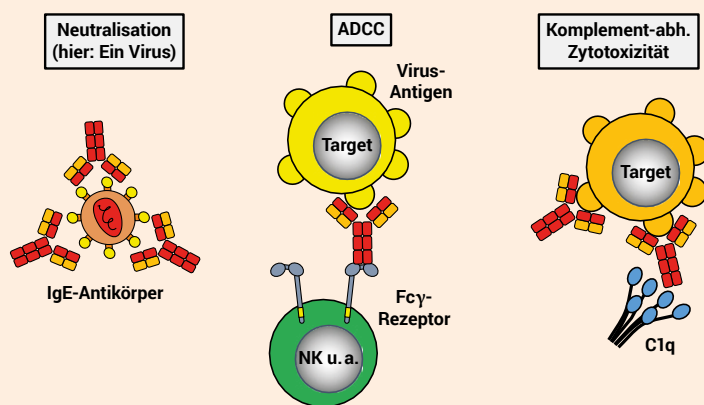
Monoclonals zeichnen sich durch ihre hohe Spezifität, die Höhe des Titers und

die im Prinzip permanente Herstellungsmöglichkeit im Labor aus. Die extreme Spezifität kann allerdings auch ein Nachteil sein, wenn sich das Antigen verändert und der Monoclonal sein Epitop nicht mehr findet. Praktisches Beispiel: Die frühen Virusvarianten des Corona-Virus SARS-CoV2 konnten durch bestimmte Monoclonals gut neutralisiert werden. Bei den jüngsten Virusvarianten im Verlauf der Pandemie haben diese Antikörper ihre neutralisierende Wirkung weitestgehend verloren, da sich die Epitope des Virus verändert haben.

## Herstellung

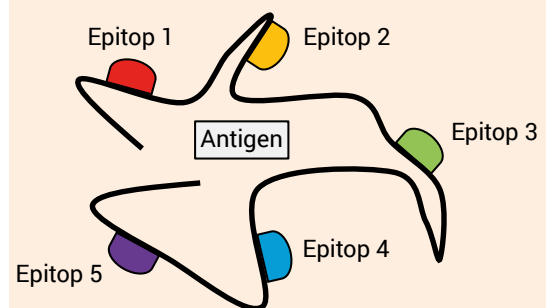
1975 haben Georges Köhler und César Milstein in einer vergleichsweise kurzen Publikation das Prinzip der Herstellung von Monoclonals beschrieben [8]. Bereits 20 Jahre früher hatte Niels Jerne grundlegende Überlegungen zur Entstehung von Antikörpern veröffentlicht, ohne die die Arbeit von Köhler und Milstein nicht möglich gewesen wäre [7]. In Abbildung 3 wird das Prinzip der Herstellung von Monoclonals mithilfe der Hybridomtechnik erläutert.

Abbildung 1. Antikörper: Effektorfunktionen



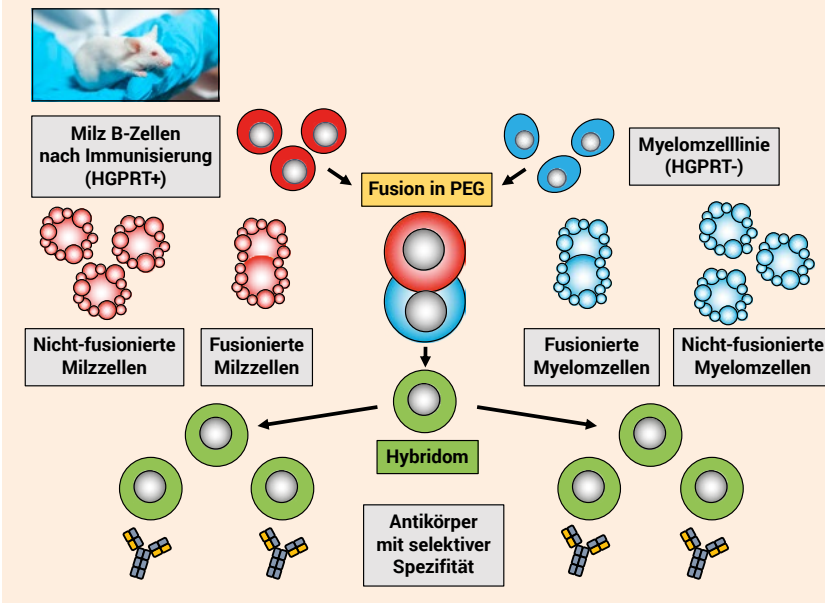
Antikörper können Antigene wie z. B. Viren neutralisieren, bei der sogenannten Antikörper-abhängigen Zytotoxizität (ADCC) – hier durch natürliche Killerzellen – eine Vermittlerrolle einnehmen oder Zielzellen markieren, die dann nach Aktivierung von Komplement über C1q lysiert werden.

Abbildung 2. Antigen und Epitope



Ein Antigen trägt verschiedene Epitope, die bei einer Immunisierung vom Immunsystem erkannt werden und zur Antikörperbildung führen können. Die Immunantwort ist polyklonal. Ein monoklonaler Antikörper, von uns im Text „Monoclonal“ genannt, würde jeweils nur eines dieser Epitope erkennen.

Abbildung 3. Hybridom Technik



Eine Maus wird zunächst mit einem Antigen immunisiert, anschließend die B-Zellen aus der Milz isoliert. Diese Zellen sind HGPRT-positiv (HGPRT: Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase), die Immunantwort dieser B-Zellen ist zunächst polyclonal. In Gegenwart von PEG (Polyäthylenglykol) können B-Zellen der Milz mit einer HGPRT-negativen Myelomzelllinie verschmolzen werden. Solche Zelllinien sind monoklonal, tragen aber keine Spezifität. In einem Medium, das Aminopterin (ein Zellgift) enthält, wachsen in erster Linie die Hybridome, die HGPRT enthalten und damit einen Selektionsvorteil haben. Alle anderen fusionierten Zellen sterben ab, was in der Grafik durch die in der Histologie typischerweise auftretenden Apoptose-Blasen erkennbar ist. Die überlebenden Hybridome müssen dann daraufhin getestet werden, welche Epitope sie erkennen. Monoclonals repräsentieren jeweils einen einzigen Klon und können somit permanent weiter erzeugt werden, ohne dabei ihre Spezifität zu verlieren.

modifiziert nach [2]

Weitere technische Varianten bei der Herstellung sind bei Tomita und Tsumoto (2011) beschrieben [12].

Für den Einsatz in der Diagnostik spielt es keine Rolle, ob ein Monoclonal von Maus oder Mensch stammt. Denkt man aber an die Therapie, muss man berücksichtigen,

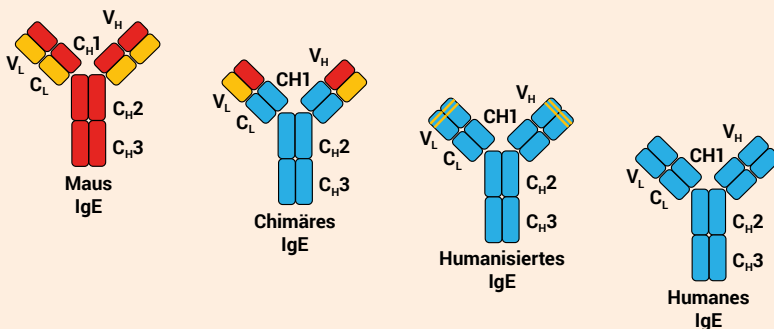
dass Maus-IgG für den Menschen ein Fremdanigen darstellt und im Menschen damit eine anti-Maus-IgG Immunantwort auslösen wird. Daher war es von Interesse, Monoclonals zu „humanisieren“, indem man die konstante Region des Maus-IgG durch die des Menschen ersetzt, wie Abbildung 4 zeigt.

Für die Herstellung humaner Monoclonals wurde die sogenannte Phagen-Display-Technik entwickelt. Für die Details dieser Methode verweisen wir auf entsprechende Übersichtsarbeiten [1, 9]. Grob zusammengefasst: Aus humanen B-Zellen wird m-RNA isoliert und in komplementäre c-DNA kopiert (c steht für complementär). Aus der c-DNA werden die Gene für die leichte und schwere Kette eines IgG-Moleküls isoliert und mittels PCR (Polymerase chain reaction) amplifiziert. Durch Einsatz bestimmter Bakteriophagen, z.B. M13, und Coli-Bakterien können aus dieser Antikörper-Bibliothek die erwünschten Antikörper isoliert werden.

Neben den klassischen vollständigen Antikörpern sind dank gentechnischer Verfahren weitere Arten von Antikörpern hergestellt worden. So sind folgende Produkte möglich [4, 10]:

- Antikörper-Medikament-Konjugate,
- Antikörper-Zytokin-Konjugate (Immunzytokine),
- Bispezifische Antikörper,

Abbildung 4. Antikörperdomänen: Maus und Mensch



Wir sehen die Domänenstruktur im Bereich des variablen (V) und des konstanten (C) Anteils zunächst von Maus-IgG (H: schwere [heavy]; L: leichte [light] Kette). Mittels gentechnischer Verfahren können Anteile dieser Antikörper durch humane Anteile ersetzt und damit „humanisiert“ werden. Die Spezifität des ursprünglichen Maus-Antikörpers bleibt im Bereich der Antigen-Bindungsregion erhalten. Nur die reinen humanen Monoclonals werden mit eigenen Techniken hergestellt, denn sie enthalten nicht die Eiweißstrukturen der Maus.

modifiziert nach [10]

- Nanokörper (einzelne monomere variable Domäne),
- Einzelketten variables Fragment (variable Domänen aus Schwer- und Leichtkette mit einem Verbindungsstück [Linker]),
- sogenannte Diabodys (Homodimere des letzteren mit verkürztem Linker),
- kleine Immunoproteine, ebenfalls Homodimere mit εCH4-Domäne bei IgE oder CH3-Domäne bei IgG (CH steht für Constant Heavy, also eine Region der konstanten schweren Kette),
- F(ab')<sub>2</sub> Fragmente (F = Fragment, ab = antigenbindende Region),
- Fusion von 2 Einzelketten V-Fragmenten mit einem IgG-Fc (Fc = Fragment, c = crystallizable oder constant).

Durch die Vielfalt dieser Produkte sind auch neue Therapiemöglichkeiten bei sehr verschiedenen Erkrankungen eröffnet worden.

## Nomenklatur

Die Bezeichnungen der Monoclonals sind zunächst etwas verwirrend, folgen aber einer gewissen Systematik. In Tabelle 1 wird diese Nomenklatur erklärt.

Des Weiteren spielt eine Rolle für die Bezeichnung, wo die Zielzellen lokalisiert sind. Beispiele nach [https://flexikon.doccheck.com/de/Monoklonaler\\_Antikörper](https://flexikon.doccheck.com/de/Monoklonaler_Antikörper) sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Mit diesen Vorgaben sind die Begriffe für einige im Handel befindliche Monoclonals verständlich, wie in Tabelle 3 zu erkennen ist.

## Einsatz in Diagnostik und Therapie

Ein sehr großes Einsatzgebiet stellt im Bereich der Diagnostik die Charakteri-

Tabelle 1. Nomenklatur der Monoclonals (Mab = „monoclonal antibody“)	
Antikörper	Endung (+ mab)
Murine Antikörper (von der Maus)	-o-
Ratte	-a-
Hybrid Ratte/Maus	-axo-
Hamster	-e-
Antikörper vom Primaten	-i-
Chimäre Antikörper (Nur der variable Teil des Antikörpers ist Mausprotein)	-xi-
Humanisierte Antikörper (Nur die Antigenbindungsstellen sind Mausprotein)	-zu-
Humane rekombinante Antikörper	-u-

Tabelle 2. Nomenklatur der Monoclonals: Bezeichnung der Zielzelle (Beispiele)	
Zielantigen wo?	Bezeichnung
Viren	-vi(r)-
Bakterien	-ba(c)-
Toxin	-tox(a)-
Immunsystem	-li(m)-
Interleukin	-ki(n)-
Ovarialtumor	-go(v)-
Hodentumor	-go(t)-

Tabelle 3. Bezeichnung der Monoclonals und Ableitung der Wirkung (Beispiele)	
Beispiel	Wirkung
Ada-lim-u-mab	Humaner Antikörper gegen TNF-α
Ri-tu-xi-mab	Chimärer anti-CD20 Antikörper gegen B-Zellen
Du-pil-u-mab	Humaner Antikörper gegen α-Kette des IL-4/IL-13 Rezeptors, CD124
Oma-li-zu-mab	Humanisierter Antikörper gegen IgE

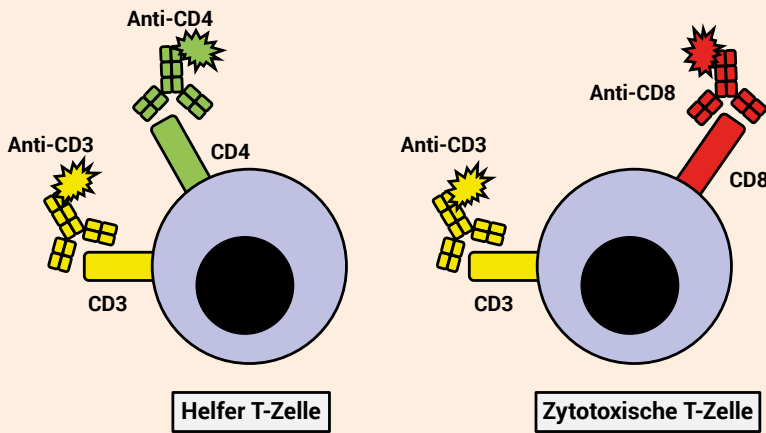
sierung von Leukozyten aufgrund ihrer Oberflächeneigenschaften dar. Dafür wurde die sog. **CD-Nomenklatur** (CD = cluster of differentiation) entwickelt. Von CD1 bis CD371 sind die Eigenschaften der exprimierten Antigene beschrieben.

Als einfaches Beispiel sei in Abbildung 5 die Unterscheidung von Helfer- und zytotoxischen T-Zellen dargestellt, die bei der

Flowzytometrie (FACS = fluorescence-activated cell scanning) benutzt wird.

Auch in der Therapie sind Monoclonals inzwischen unverzichtbar geworden. Dies gilt insbesondere für die Onkologie, Rheumatologie, Infektiologie, Neurologie, Dermatologie und auch Allergologie. Im Sinne der Zeitschrift möchten wir uns auf die Allergologie konzentrieren.

Abbildung 5. Beispiel Diagnostik: Flowzytometrie



Monoclonals können mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert (gefärbt) werden, die unterschiedliche Wellenlängen emittieren. So lässt sich mit einem geeigneten Gerät (FACS) analysieren, ob eine Zelle ein Antigen auf der Oberfläche trägt oder nicht. Im Beispiel: Anti-CD3 (gelb) erkennt sowohl Helfer- wie auch zytotoxische T-Zellen, anti-CD4 (grün) nur Helferzellen, anti-CD8 (rot) nur zytotoxische T-Zellen.

### Einsatz in der Allergologie

Die in Tabelle 4 aufgelisteten Monoclonals werden derzeit in der Allergologie eingesetzt (ohne Anspruch auf Vollständigkeit). Da mit diesen Substanzen

weitere klinische Studien durchgeführt werden, erscheint es möglich, dass in Zukunft neue Indikationen dazu kommen werden, zudem Indikationen auch im Kindes- und Jugendalter gestellt werden können. Zu Kombinationen zweier Mono-

Tabelle 4. In der Allergologie derzeit eingesetzte Monoclonals für die Therapie

Antikörper	Handelsname	Spezifität	Einsatzgebiet/Indikationen
Omalizumab	Xolair	IgE-Fc	Schweres allergisches Asthma Chronische Rhinosinusitis mit Nasenpolypen Chronische spontane Urtikaria
Dupilumab	Dupixent	IL-4/IL-13Rα	Schwere Atopische Dermatitis Add-on-Erhaltungstherapie für schweres Asthma mit Typ-2-Inflammation Chronische Rhinosinusitis zusammen mit Nasenpolypen
Benralizumab	Fasenra	IL-5Rα	Add-on-Erhaltungstherapie bei erwachsenen Patienten mit schwerem eosinophilem Asthma
Mepolizumab	Nucala	IL-5	Schweres refraktäres eosinophiles Asthma Eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis (EGPA)
Reslizumab	Cinqaero	IL-5	Erwachsene mit schwerem eosinophilem Asthma
Tralokinumab	Adtralza	IL-13	Mittelschwere bis schwere Atopische Dermatitis bei Erwachsenen

clonals sind den Autoren zurzeit keine klinischen Daten bekannt. Am Beispiel von Omalizumab soll der Wirkmechanismus eines Monoclonals erläutert werden (Abb. 6). Omalizumab ist aktuell zum einen bei schwerem allergischem Asthma, zum anderen als ergänzende Therapie zur Hyposensibilisierung indiziert. Beim Asthma wird vor allem der Effekt des Omalizumabs auf die Spätreaktion der Entzündung, bei der Begleittherapie zur Hyposensibilisierung die Inhibition der Mastzell-vermittelten Sofortreaktion genutzt.

### Risiken

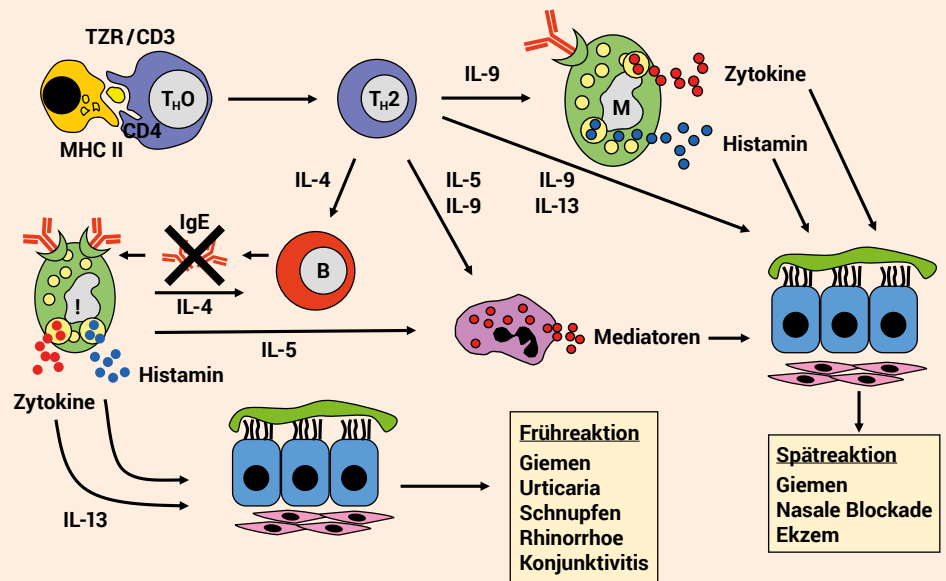
Wie gravierend die therapeutische Intervention mit Monoclonals sein kann, zeigte sich bei der klinischen Prüfung eines Antikörpers gegen CD28 (TGN1412), einem kostimulatorischen Molekül auf T-Zellen. Dieser sollte eigentlich das kostimulatorische Signal blockieren, erwies sich aber als stimulierend und führte zu einem Zytokinsturm mit Multiorgan dysfunktion [11]. In einer sehr schönen Übersichtsarbeit werden für alle verfügbaren Monoclonals die Risiken zusammengefasst [3]. Monoclonals sollten also nach Abwägung von Nutzen und Risiken nur im Rahmen zugelassener Indikationen eingesetzt werden.

### Ausblick

Monoclonals haben auch in der Allergologie den Einstieg in zielgerichtete biologische Therapien ermöglicht. Basierend auf diesen Erkenntnissen gibt es erste Publikationen dazu, dass z.B. Dupilumab auch bei verschiedenen genetisch bedingten Immundefekten mit erhöhtem IgE wirksam ist. Im nächsten eJournal wird darauf eingegangen werden. Über das Thema TH2-Asthma und therapeutische Monoclonals wollen wir dann im übernächsten eJournal berichten.

## Abbildung 6. Beispiel Therapie: Anti-IgE

Bei zur Sensibilisierung gegen Allergene prädisponierten Individuen bewirkt der Allergenkontakt die Entwicklung und Aktivierung von TH<sub>2</sub>-Zellen, die über TH<sub>2</sub>-Zytokine B-Zellen zur Antikörper-Antwort stimulieren. Das von den TH<sub>2</sub>-Zellen freigesetzte IL-4 stimuliert dabei insbesondere die IgE-Synthese. IgE sensibilisiert (also bindet an) Mastzellen und verursacht bei erneutem Allergenkontakt über eine Kreuzvernetzung die Freisetzung von Mediatoren (wie Histamin) sowie von Leukotrienen und Zytokinen, die weitere Entzündungseffekte induzieren. So kommen die Früh- und die Spätreaktion vor allem in der Schleimhaut der Atemwege zustande. Wird IgE durch Omalizumab neutralisiert, kann es nicht an seinen Rezeptor auf Mastzellen, Basophilen, Eosinophilen und dendritischen Zellen binden: Die IgE-vermittelte Sofortreaktion und die Spätreaktion werden gebremst.



modifiziert nach [6]

## Infobox: Allgemeine Risiken bei der Verwendung monoklonaler Antikörper

- Auslösung immunologischer und autoimmunologischer Erkrankungen
- Zytokin-Release-Syndrom
- Zytopenien, Hypogammaglobulinämie
- allgemein erhöhte Infektionsanfälligkeit
- erhöhtes Risiko für spezifische und opportunistische Infektionen
- allergische Reaktionen (s. dazu auch [5])
- Bildung antiidiotypischer Antikörper

(für Details zu einzelnen Monoclonals sei auf die Arbeit von Davis et al. 2017 [3] verwiesen)

## Prof. Dr. med. Volker Wahn

Klinik für Pädiatrie  
mit Schwerpunkt Pneumologie,  
Immunologie und Intensivmedizin  
Augustenburger Platz 1  
13353 Berlin  
[volker.wahn@charite.de](mailto:volker.wahn@charite.de)

## Prof. Dr. med. Albrecht Bufe

Henkenbergstraße 24  
44797 Bochum  
[bufealb@gmail.com](mailto:bufealb@gmail.com)

## Literatur

- 1 Alfaleh MA, Alsaab HO, Mahmoud AB et al. Phage Display Derived Monoclonal Antibodies: From Bench to Bedside. *Front Immunol* 2020; 11: 1986
- 2 Alkan SS. Monoclonal antibodies: the story of a discovery that revolutionized science and medicine. *Nat Rev Immunol* 2004; 4(2): 153–6
- 3 Davis BP, Ballas ZK. Biologic response modifiers: Indications, implications, and insights. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 139(5): 1445–1456
- 4 Elgundi Z, Reslan M, Cruz E, Sifniotis V, Kayser V. The state-of-play and future of antibody therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev* 2017; 122: 2–19
- 5 Galvão VR, Castells MC. Hypersensitivity to Biological Agents—Updated Diagnosis, Management, and Treatment. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2015; 3(2): 175–85
- 6 Hawrylowicz CM, O’Garra A. Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. *Nat Rev Immunol* 2005; 5(4): 271–83
- 7 Jerne NK. The natural-selection theory of antibody formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1955; 41(11): 849–57
- 8 Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256(5517): 495–7
- 9 Lerner RA. Combinatorial antibody libraries: new advances, new immunological insights. *Nat Rev Immunol* 2016; 16(8): 498–508
- 10 Schmid AS, Neri D. Advances in antibody engineering for rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2019; 15(4): 197–207
- 11 Suntharalingam G, Perry MR, Ward S et al. Cytokine storm in a phase 1 trial of the anti-CD28 monoclonal antibody TGN1412. *N Engl J Med* 2006; 355(10): 1018–28
- 12 Tomita M, Tsumoto K. Hybridoma technologies for antibody production. *Immunotherapy* 2011; 3(3): 371–80